

# ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, Д. С. Золотых

## ВЛИЯНИЕ СОЕДИНЕНИЯ АТАСЛ НА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ

Пятигорский медико-фармацевтический институт-филиал  
ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет»,  
г. Пятигорск, Россия

*Целью настоящего исследования являлось провести оценку влияния соединения АТАСЛ на противовоспалительную функцию эндотелия сосудов на фоне ишемии головного мозга у крыс. В результате проведенного исследования установлено положительное влияние соединения АТАСЛ на противовоспалительную функцию эндотелия сосудов в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс. Введение данного соединения способствовало снижению (по отношению к животным, не получавшим фармакологической поддержки) содержания С – реактивного белка на 99,1% ( $p < 0,05$ ), матриксной металлопротеиназы – 1 на 37,7% ( $p < 0,05$ ) и лейкоцитов в крови на 61,3% ( $p < 0,05$ ). При этом фармакологический эффект от введения АТАСЛ был сопоставим с таковым у сулодексиды и превосходил эффект от применения мексидола и тиоктовой кислоты.*

**Ключевые слова:** ишемия головного мозга, эндотелиальная дисфункция, воспаление, эндотелиопротекция.

### ВВЕДЕНИЕ

Ишемический инсульт представляет собой гетерогенный клинический синдром, объединяющий в себе целый ряд патофизиологических механизмов, формирующих «ишемический каскад» повреждения головного мозга. Немаловажным элементом этого «каскада» является воспалительный процесс [1, 2]. При этом ведущую роль в инициации и дальнейшем прогрессировании воспаления играет альтерация эндотелия сосудов – эндотелиальная дисфункция [3, 4]. В условиях ишемии головного мозга на поврежденном эндотелии экспрессируется ряд молекул адгезии (Р-, L-, E-селектин), что повышает коэффициент взаимодействия эндотелиоцитов с тромбоцитами и лейкоцитами, способствуя лейкоцитарной инфильтрации паренхимы мозга и активации тромбообразования [5, 6]. Кроме того, в условиях ишемического повреждения головного мозга активируется ряд протеолитических ферментов, среди которых наибольшую роль в прогрессировании дисфункции эндотелия, а следовательно и воспалительного процесса, играет экспрессия матриксной

металлопротеиназы-1 (ММП-1) – эндотелиоспецифичного комплекса [7]. Активация ММП-1 способствует деструкции коллагеновых волокон субэндотелиального слоя, что ведет к росту экстравазации воды, электролитов и белков, инициируя, таким образом, развитие отека головного мозга, усилению ангиогенеза с гиперпролиферацией сосудистой стенки, повышает продукцию хемокинов, способствуя тем самым повышению лейкоцитарной инфильтрации мозговой ткани [7, 8]. Таким образом, можно предположить, что коррекция дисфункции эндотелия сосудов в условиях ишемического повреждения головного мозга способна уменьшать проявление воспаления и способствовать тем самым церебропротекции. При этом потенциальной «мишенью» для действия фармакологически активных субстанций может быть ММП-1. Ранее для соединения АТАСЛ была установлена способность восстанавливать вазодилатирующую [4] и антитромботическую [3] функции эндотелия в условиях недостаточности мозгового кровообращения, что может служить предпосылкой для изучения влияния данного соединения на противовоспалительную

функцию эндотелия сосудов на фоне ишемии головного мозга.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент выполнен на 60-ти крысах-самцах линии Wistar массой 200–220 грамм, разделенных на 6 равных экспериментальных групп по 10 особей в каждой. Первая группа являлась ложнооперированной (Л/О). Вторая группа крыс – группа негативного контроля (НК) с фокальной ишемией головного мозга, не получавшая фармакологическую поддержку. Третьей и последующим группам животных также воспроизводили ишемическое повреждение головного мозга путем необратимой (коагуляция) правосторонней окклюзии средней мозговой артерии в условиях хлоралгидратной анестезии (350 мг/кг) [3], при этом третьей группе крыс вводили мексидол (ФАРМАСОФТ, Россия) в дозе 30 мг/кг, четвертой – тиоктовую кислоту (Октолипен, Фармстандарт – Лексредства, Россия) в дозе 50 мг/кг, пятой и шестой – сулодексид (Вессел Дуэ Ф, Alfa Wasserman, Италия) и АТАСЛ (4-гидрокси-3,5-дитретбутил коричная кислота) в дозе 30 ЕВЛ (единицы высвобождения липопроотеинлипазы) и 100 мг/кг соответственно [3, 4]. Исследуемое соединение АТАСЛ и препараты сравнения вводились *per os* непосредственно сразу после воспроизведения ишемии головного мозга и на протяжении 3-х суток. По истечении указанного времени производили оценку состояния противовоспалительной функции эндотелия путем определения концентрации С-реактивного белка (СРБ), содержания лейкоцитов в крови и активности ММП-1. Концентрацию СРБ оценивали методом латекс – агглютинации стандартным набором реактивов для качественного и количественного определения СРБ производства компании «АРБИС+» (Санкт-Петербург, Россия). Содержание лейкоцитов в крови определяли с использованием системы автоматического гематологического анализатора ВС – 2800 vet (Mindray, КНР). Концентрацию ММП-1 оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа набором реактивов для видоспецифичного (крыса) определения матриксной металлопротеиназы-1 производства компании *Cloud Clone corp.*

(США). Считывание результатов производили на микропланшетном ридере Infinite F50 (*Tecan*, Австрия).

Результаты экспериментов обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета прикладных программ STATISTICA 6.0 (StatSoft, Inc., США для операционной системы Windows) и Microsoft Excel 2010. Полученные результаты проверяли на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения для сравнения средних использовали t-критерий Стьюдента. В противном случае дальнейшую статистическую обработку результатов эксперимента проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание СРБ (таблица) у ложнооперированных животных составляло  $2,23 \pm 0,228$  мг/л при концентрации лейкоцитов в крови у данной группы крыс  $8,26 \pm 1,325 \times 10^9$  кл/л. У Л/О группы животных концентрация ММП-1 составляла  $24,17 \pm 1,297$  нг/мл. Полученные результаты согласуются с литературными данными [9].

На фоне фокальной ишемии головного мозга у НК группы животных отмечено повышение концентрации С-реактивного белка и ММП-1, относительно ложнооперированных крыс в 6,2 ( $p < 0,05$ ) раза и на 45,1% ( $p < 0,05$ ) соответственно. Данные изменения сопровождались умеренным лейкоцитозом (содержание лейкоцитов у НК группы крыс превосходило аналогичный показатель Л/О животных на 35,1% ( $p < 0,05$ )), что согласуется с литературными данными [1].

Применение мексидола в условиях ишемического повреждения головного мозга способствовало уменьшению содержания С-реактивного белка (таблица) относительно группы животных негативного контроля на 65,5% ( $p < 0,05$ ), при полном восстановлении лейкоцитарной концентрации (таблица) (статистически значимых отличий относительно Л/О группы крыс установлено не было). Содержание ММП-1 (таблица) на фоне введения крысам мексидола статистически значимо не изменилось по отношению к НК группе животных.

Таблица. – Изменение параметров, характеризующих противовоспалительную функцию эндотелия сосудов у крыс на фоне фокальной ишемии головного мозга и применения соединения АТАСЛ

Группа	ЛО	НК	Сулодексид	Мексидол	Тиоктовая кислота	АТАСЛ
СРБ мг/л	2,23±0,228	13,92±1,125Δ	7,46±0,527*	8,41±0,743*	11,21±1,261	6,99±0,446*
WBC 10 <sup>9</sup> кл/л	8,26±1,325	11,16±1,178Δ	7,34±0,998*	6,88±0,959*	8,24±0,928*	6,92±0,817*
ММП-1 нг/мл	24,17±1,297	35,06±5,919Δ	28,86±2,315	32,11±0,025	24,67±2,604*	25,47±2,498*

Примечания: Δ – статистически значимо (t-критерий Стьюдента) относительно Л/О группы крыс (p<0,05); \* – статистически значимо (U-критерий Манна-Уитни) относительно НК группы крыс (p<0,05).

На фоне введения тиоктовой кислоты содержание С-реактивного белка и ММП-1 (таблица) статистически значимо не отличались от таковых у НК группы крыс. Концентрация лейкоцитов в крови у животных, получавших тиоктовую кислоту, было сопоставимо с группой ложнооперированных крыс.

У животных, получавших сулодексид, концентрация С-реактивного белка (таблица) относительно группы крыс негативного контроля снизилась на 86,3% (p<0,05). При этом у данной группы животных содержание лейкоцитов уменьшилось по отношению к НК группе крыс на 52% (p<0,05). Концентрация ММП-1 на фоне применения сулодексида снизилась относительно группы животных негативного контроля на 42,1% (p<0,05).

Применение соединения АТАСЛ на фоне ишемии головного мозга способствовало уменьшению (по сравнению с НК группой крыс) концентрации СРБ и ММП-1 на 99,1% (p<0,05) и 37,7% (p<0,05) соответственно. При этом содержание лейкоцитов у животных, получавших АТАСЛ, статистически значимо не отличалось от аналогичного значения Л/О группы крыс (таблица).

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что соединение АТАСЛ может оказывать положительное влияние на противовоспалительную функцию эндотелия сосудов за счет уменьшения концентрации матриксной металлопротеиназы-1, снижения концентрации С-реактивного белка и лейкоцитов в крови у крыс на фоне фокальной ишемии головного мозга, что делает данное соединение перспективным объектом для дальнейшего изучения с целью создания эндотелиопротекторного средства.

## ВЫВОДЫ

1. Фокальная ишемия головного мозга крыс приводит к угнетению противовоспалительного потенциала сосудистого эндотелия, сопровождаемому повышением концентрации С-реактивного белка (в 6,2 (p<0,05) раза), протеолитических ферментов, в частности ММП-1 (на 45,1% (p<0,05)), и умеренным лейкоцитозом (содержание лейкоцитов у НК группы крыс увеличилось на 35,1% (p<0,05)).

2. Из препаратов сравнения наиболее выраженное действие на состояние противовоспалительной функции эндотелия сосудов оказало введение сулодексида, на фоне применения которого снижалась концентрация СРБ (на 86,3% (p<0,05)), ММП-1 (на 42,1% (p<0,05)) и лейкоцитов в крови (на 52% (p<0,05)).

3. Введение соединения АТАСЛ практически в равной степени с сулодексидом способствовало уменьшению содержания СРБ, лейкоцитов в крови и ММП-1, способствуя тем самым восстановлению противовоспалительного потенциала эндотелия сосудов на фоне ишемии головного мозга у крыс, превосходя по данному эффекту мексидол и тиоктовую кислоту.

## SUMMARY

A. V. Voronkov, D. I. Pozdnyakov,  
D. S. Zolotych  
EFFECT OF 4-HYDROXY-3,5-DITRETIBUTIL CINNAMIC ACID COMPOUND ON ANTI-INFLAMMATORY CAPACITIES OF ENDOTHELIUM OF CEREBRAL VESSELS IN RATS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL CEREBRAL ISCHEMIA  
The aim of this research has been to eval-

uate the effect of the ATACL compound on the anti-inflammatory function of the vascular endothelium against the background of cerebral ischemia in rats. As a result of the study, a positive effect of the ATACL compound on the anti-inflammatory function of the vascular endothelium under conditions of focal cerebral ischemia in rats has been established. Introduction of this compound contributed to a decrease (in relation to animals having not received pharmacological support) of C-reactive protein concentration by 99,1% ( $p<0,05$ ), matrix metalloproteinase-1 by 37,7% ( $p<0,05$ ) and leukocytes in blood by 61,3% ( $p<0,05$ ). Wherein, pharmacological effect after administration of ATACL has been comparable to that of sulodexide and has exceeded the effect of mexidol and thiocctic acid administration.

Keywords: cerebral ischemia, endothelial dysfunction, inflammation, endothelioprotection.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Elkind, M. S. V. C-reactive Protein as a Prognostic Marker after Lacunar Stroke: The Levels of Inflammatory Markers in the Treatment of Stroke (LIMITS) Study / M. S. V. Elkind, J. M. Luna, L. A. McClure // *Stroke; a journal of cerebral circulation*. – 2014. – Vol. 45. – P. 707–716.
2. Yunoki, T. Anti-oxidative nutrient-rich diet protects against acute ischemic brain damage in rats / T. Yunoki, K. Deguchi, Y. Omote // *Brain. Res.* – 2014. – Vol. 31. – P. 1587–1601.
3. Воронков, А. В. Сравнительная оценка влияния ATACL, мексидола и тиоктовой кислоты на антитромботическую функцию эндотелия и некоторые показатели состава периферической крови экспериментальных животных на фоне фокальной ишемии головного мозга / А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, А. В. Мамлеев // *Современные проблемы науки и образования*. – 2016. – № 2.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=24398>. – Дата доступа: 13.12.2017.
4. Воронков, А. В. Эндотелиопротекторные свойства флоридзина, 4-гидрокси-3,5-ди-третбутил коричной кислоты и соединения VMA – 10-18 при экспериментально вызванной ишемии головного мозга / А. В. Воронков, Д. И. Поздняков, А. В. Мамлеев // *Астраханский медицинский журнал*. – 2016. – Т. 1, № 3. – С. 58–64.
5. Henry, B. L. A Novel allosteric pathway of thrombin inhibition: Exosite II mediated potent inhibition of thrombin by chemo-enzymatic, sulfated dehydropolymers of 4-hydroxycinnamic acids / B. L. Henry, B. H. Monien, P. E. Bock // *The Journal of biological chemistry*. – 2007. – Vol. 282. – P. 31891–31899.
6. Warner, D. S. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain / D. S. Warner, H. Sheng // *J. Exp. Biol.* – 2004. – Vol. 207. – P. 21–31.
7. Mazor, R. Matrix Metalloproteinase -1-mediated Up-regulation of Vascular Endothelial Growth Factor-2 in Endothelial Cells / R. Mazor, T. Alsaigh, H. Shaked // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2013. – Vol. 288. – P. 598–607.
8. Struewing, I. T. Enhanced Endothelial Cell Senescence by Lithium-induced Matrix Metalloproteinase-1 Expression / I. T. Struewing, S. N. Durham, C. D. Barnett // *The Journal of Biological Chemistry*. – 2009. – Vol. 284. – P. 595–606.
9. Singh, U. Human C-reactive protein promotes oxidized low density lipoprotein uptake and matrix metalloproteinase-9 release in Wistar rats / U. Singh, M. R. Dasu, P. G. Yancey // *Journal of lipid research*. – 2008. – Vol. 49. – P. 1015–1023.

#### Адрес для корреспонденции

357532, Россия,  
г. Пятигорск, пр. Калинина 11,  
Пятигорский медико-фармацевтический институт,  
кафедра фармакологии  
с курсом клинической фармакологии.  
e-mail: [pozdniackow.dmitry@yandex.ru](mailto:pozdniackow.dmitry@yandex.ru),  
тел: +7-918-756-08-89,  
Поздняков Д. И.

Поступила 09.01.2018 г.